动 物 学 研 究 2003, Oct. 24 (5): 349~354 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

飞蝗热休克蛋白70cDNA片段的克隆和序列分析

王宪辉[1], 陈 兵, 康 乐[2]
(中国科学院动物研究所, 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100080)

摘要: 采用RT-PCR方法对海南、河北和辽宁3个飞蝗(*Locusta migratoria* L.)种群的热休克蛋白70(HSP70)基因cDNA片段进行克隆。在事先优化的条件下，通过简并性上游引物和下游引物扩增出了河北种群飞蝗HSP70基因的604 bp cDNA片段(GenBank登录号为AY299637)，推导的氨基酸序列包含201个氨基酸残基。分析表明，由飞蝗该片段推导的氨基酸序列与其他昆虫的同源性较高；3个种群该片段的核苷酸序列相似性更高达98.75%。由此推测，飞蝗种群间抗寒性的差异可能不是HSP70的序列变异引起的，而与HSP70的诱导表达有关。

关键词: 飞蝗; 抗寒性; 热休克蛋白70基因; 序列
中图分类号: Q969.265 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254-5853(2003)05-0349-06

Clone and Sequence Analysis of cDNA Fragment of Heat Shock Protein 70 Gene in the Migratory Locust, *Locusta migratoria*

WANG Xian-hui[1], CHEN Bing, KANG Le[2]
(*State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China*)

Abstract: Using a RT-PCR method, the partial cDNA sequences of heat shock protein 70 genes from three populations (Hainan, Hebei and Liaoning of China) of migratory locusts, *Locusta migratoria* L. were cloned and then analyzed. Under predetermined optimal reaction conditions, one fragment of 604 bp was amplified from eggs of Hebei locust population with a pair of degenerate primers (GenBank accession No. AY299637), and deduced amino acid sequence contains 201 residues. Analyzed results show that there is high homology of amino acid sequence between the migratory locust and other insects, and nucleotide sequence identity among three locust populations is 98.75% in this fragment. Therefore, it is suggested that difference of cold hardiness between different locust populations might be connected with the induced expression of heat shock protein 70, but not the cDNA sequence divergence.

Key words: *Locusta migratoria*; Cold hardiness, Heat shock protein 70 gene; Sequence

飞蝗(*Locusta migratoria* L.)是一种严重威胁农业生产的害虫，在我国分布广泛。其南北地理种群(海南、辽宁)的抗寒性明显不同，表明两个种群在温度适应上发生了变异(Jing & Kang, 2003)。

昆虫在冷激和热激下往往会产生热休克蛋白(heat shock proteins, HSP)，它们在昆虫的环境适应和进化中起着重要作用(Lee & Denlinger, 1991; Krebs & Brain, 1999; Brian et al, 1999)。Goto & Kimura (1998)比较过3个果蝇近缘种热休克蛋白基因的表达情况，发现在冷激条件下，亚热带低海拔种(*Drosophila watanabe*)诱导热休克蛋白表达的阈温度要比温带种(*D. triauraria*)和亚热带高

收稿日期: 2003-02-24; 接受日期: 2003-07-31
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30240017)
1. E-mail: wangxh@panda.ioz.ac.cn
2. 通讯作者(Corresponding author), E-mail: lkang@panda.ioz.ac.cn

海拔种（*D. trapezifrons*）高，而亚热带低海拔种的耐寒性却最低，说明在果蝇中热休克蛋白基因表达和耐寒性呈负相关。Sorensen et al（2001）研究果蝇（*D. huzzatii*）不同自然种群间HSP70基因表达后，发现在冷激下寒温带种群诱导热休克蛋白基因表达的阈温度要明显低于热带种群，从而得出与Goto类似的结论。

热休克蛋白作为生物体对抗不良环境的一种重要物质（Zhang & Chai，1999)，是否同其他昆虫一样，在飞蝗南北地理种群的温度适应性变异和进化中也起到重要作用？尽管Li et al（2000）利用免疫杂交技术研究过飞蝗不同地理种群（和硕、哈蜜、北大港）在冷激下HSP70蛋白的表达，其结果也表明飞蝗中热休克蛋白表达与耐寒性之间的负相关性，但其研究没有涉及转录过程，还不能全面说明热休克蛋白在飞蝗温度适应性变异和进化中的作用。在本研究中，我们利用反转录多聚酶链式反应（reverse transcriptase chain reaction，RT-PCR）的方法，对飞蝗HSP70基因cDNA片段进行了克隆和序列分析；同时，还比较了这一片段在海南、河北、辽宁3个种群间的变异情况，以了解HSP70序列结构与抗寒性间的关系。

1 材料与方法

1.1 昆虫饲养和材料处理

2002年4月上旬，在河北省黄骅市（38°25′N；117°20′E）野外采集飞蝗卵，然后置室内气候箱内孵化。箱内温度保持在（30 ± 0.5）℃，相对湿度在60%；蝗卵放在湿度10% ~ 12%的细沙中。蝗卵孵化后，转入饲养笼（50 cm × 70 cm × 80 cm）中饲养。饲养笼为两层，其中间夹板的孔中放置盛有湿沙的塑料花盆（直径为12 cm）供成虫产卵。饲料为飞蝗喜食的小麦苗（高10 cm)、玉米叶和麦麸。饲养笼温度保持为（30 ± 2）℃，相对湿度为60%，光周期为L:D = 14:10，白炽灯泡提供光源。连续饲养4代，取第4代成虫产的卵用于本实验。将每天收集的蝗卵放在上述孵化条件下，7 d后取出，温水漂洗干净，晾干，装在冻存管（5 mL）中，0℃下处理3 d。处理毕即放入液氮中保存，以备提取mRAN之用。2003年7月，又在海南省三亚市（18°23′N；109°30′E)、辽宁省葫芦岛市（41°10′N；122°06′E）采集到蝗卵，材料处理如上。

1.2 主要试剂

RNAgents Total RNA Isolation试剂盒，Taq DNA聚合酶，pGEM-T Easy vector均为Promeg公司产品；SUPERSCRIPT™ Ⅱ Rnase H⁻反转录酶为Invitrogen公司产品；Silver Beads DNA胶回收试剂盒为上海生工公司产品；PCR引物由上海博亚公司合成。

1.3 实验方法

1.3.1 总RNA的提取 将20粒低温处理后的飞蝗卵置于5 mL的玻璃研磨器内，加入300 μL变性液，其他操作步骤参照RNAgents Total RNA Isolation试剂盒提供的标准程序，用试剂盒提取蝗卵总RNA。

1.3.2 单链cDNA的合成 取1 ~ 5 μg总RNA，加入0.5 mg/mL Oligo（$dT)_{12-18}$ 1 μL，Rnase-free ddH_2O至12 μL，70℃保温10 min，置于冰上迅速冷却。离心后加入下列试剂：5 × First Strand Buffer 4 μL，0.1 mol/L DTT 2 μL，DNTPs（10 mmol/L each）1 μL，混匀，42℃保温2 min。加入1 μL（200 u）SUPERSCRIPT™ Ⅱ Rnase H⁻反转录酶，混匀，42℃保温50 min。70℃ 15 min，终止反应。

1.3.3 引物序列 根据已发表的和登录在GenBank中的热休克蛋白基因的保守性区域，分别设计简并性上游引物［5′GATC（T）TGGGC（A）ACC（GC）TACTCC 3′］和下游引物［5′TGGAG（AC）ACA（G）TCG（A）AAG（A）GTG（A）CC3′]，以及用于种群序列分析的上游引物（5′GATCTGGGAACCACGTACTCC3′）和下游引物（3′CCGTGGAAACTGCAGAGGT5′）。

1.3.4 PCR扩增HSP70基因cDNA片段 50 μL反应体系中含有：5.0 μL Taq DNA聚合酶缓冲液，2.0 μL dNTP（10 mmol/L)，2.5 μL的上游引物和下游引物（20 μmol/L)，3.0 μL $MgCl_2$（25 mmol/L)，0.5 μL Taq DNA聚合酶，第一链cDNA产物3.0 μL。反应条件为94℃预变性1 min；94℃变性40 s，54℃退火40 s，72℃延伸40 s，循环30次；72℃延伸3 min。

1.3.5 测序和序列分析 PCR产物经凝胶电泳回收和纯化后，连接于载体上测序。用DNAman和BLAST软件做序列分析。

2 结果与分析

2.1 飞蝗HSP70基因cDNA片段核苷酸序列及推导的氨基酸序列

采用RT-PCR方法，扩增出与预期604 bp相符

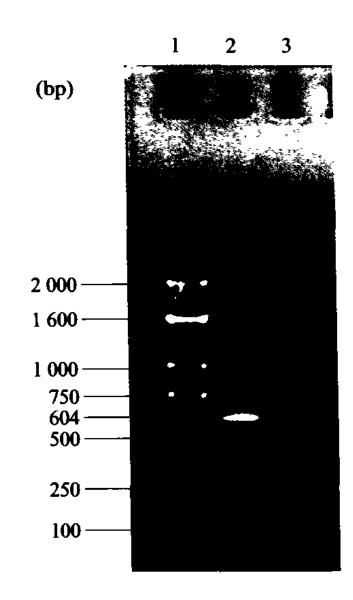


图 1　飞蝗热休克蛋白 70 基因 cDNA 片段的 PCR 扩增

Fig.1　PCR amplification of cDNA fragment of HSP70 gene in *Locusta migratoria*

泳道 1：标准分子量；泳道 2：PCR 扩增产物；泳道 3：阴性对照。

Lane 1: Molecular weight marker; Lane 2: Product of PCR amplification; Lane 3: Negative control.

的 cDNA 片段（图 1）。将 PCR 产物连接到 pGEM-T Easy 载体上，选取 3 个阳性克隆，用通用引物测序。测定的核苷酸序列及推导出的氨基酸序列见图 2。包括引物在内，所得 cDNA 片段总长度为 604 bp（GenBank 的登录号为 AY299637），推导出 201 个氨基酸残基，与鳞翅目昆虫家蚕（*Bombyx mori*）热休克蛋白的部分序列基本相同（Kimura et al, 1999）。

2.2　同源性比较

将飞蝗 HSP70 基因 cDNA 片段推导的 201 个氨基酸残基，与已知的其他昆虫 HSP70 氨基酸序列进行相似性分析（图 3）：得到前者与鳞翅目昆虫家蚕（*B. mori*）、烟草夜蛾（*Manduca sexta*）和粉纹夜蛾（*Trichoplusia ni*）的同源性分别为 88.0%、87.5% 和 87.1%，与膜翅目寄生蜂（*Cotesia rubecula*）的为 86.5%，与双翅目瘿蚊（*Artemia franciscana*）、2 种摇蚊（*Chironomus yoshimatsui*、*C. tentans*）、黑腹果蝇（*D. melanogaster*）、地中海实蝇（*Ceratitis capitata*）、白足按蚊（*Anopheles albimanus*）和非洲按蚊（*A. gambiae*）的分别为 87.5%、87.0%、86.5%、86.5%、

```
1     GATTTGGGCACCACGTACTCGTGTGTTGGAGTATTCCAGCACGGGAAAGTAGAAATCATC
1      D  L  G  T  T  Y  S  C  V  G  V  F  Q  H  G  K  V  E  I  I
61    GCCAATGATCAAGGAAATCGTACAACACCCAGTTATGTCGCATTTACAGATACAGAGCGA
21     A  N  D  Q  G  N  R  T  T  P  S  Y  V  A  F  T  D  T  E  R
121   CTTATTGGCGATGCTGCCAAAAATCAGGTGGCCATGAACCCAAGTAACACTATTTTTGAT
41     L  I  G  D  A  A  K  N  Q  V  A  M  N  P  S  N  T  I  F  D
181   GCAAAGCGTCTTATTGGGCGCCGTTTCGACGACCAGGCTGTACAAAGTGATATGAAGCAT
61     A  K  R  L  I  G  R  R  F  D  D  Q  A  V  Q  S  D  M  K  H
241   TGGCCTTTCAAAGTTATAAATGATAGTGGCAAACCAAAGATTCAGGTTCAGTACAAAGGA
81     W  P  F  K  V  I  N  D  S  G  K  P  K  I  Q  V  Q  Y  K  G
301   GAAACAAAAACCTTCTTCCCTGAGGAGGTTAGCTCAATGGTTCTAACAAAAATGAAAGAA
101    E  T  K  T  F  F  P  E  E  V  S  S  M  V  L  T  K  M  K  E
361   ACGGCAGAGGCATACCTTGGAAAGAATGTCAGTAATGCCGTGATCACAGTTCCTGCCTAC
121    T  A  E  A  Y  L  G  K  N  V  S  N  A  V  I  T  V  P  A  Y
421   TTCAATGATTCGCAAAGACAAGCCACCAAAGACGCCGGAGCCATTGCTGGTCTCAATGTG
141    F  N  D  S  Q  R  Q  A  T  K  D  A  G  A  I  A  G  L  N  V
481   CTGCGTATTATTAATGAACCTACAGCAGCTGCAATTGCCTATGGTCTCGATAAGAAGGTA
161    L  R  I  I  N  E  P  T  A  A  A  I  A  Y  G  L  D  K  K  V
541   AGTGGTCATGGTGAAAGAAATGTCCTTATTTTTGATTTGGGTGGTGGTACTTTCGACGTC
181    S  G  H  G  E  R  N  V  L  I  F  D  L  G  G  G  T  F  D  V
601   TCCA
201    S
```

图 2　飞蝗热休克蛋白 70 基因 cDNA 片段的核苷酸序列及推导的氨基酸序列

Fig.2　Partial cDNA sequence and deduced amino acid sequence of HSP70 in *Locusta migratoria*

下划线处为引物序列，核苷酸序列总长 604 bp，除引物外共 187 个氨基酸残基。

The underlined sequences represent primers; the cloned sequence consists of 604 bp, and there are 187 amino acid residued while primer sequences are exclusive.

```
Locusta migratoria        1   DLGTTYSCVGVFQHGKVEIIANDQGNRTTPSYVAFTDTERLIGDAAKNQVAMNPSNTIFD 60
Bombyx mori               10  ......................................................N..... 69
Manduca sexta             10  ......................................D...............N..... 69
Artemia franciscana       10  ......................................................N..... 69
Trichoplusia ni           12  ......................................................N..... 71
Chironomus yoshimatsui    11  ......................................................T..... 70
Drosophila melanogaster   10  ......................................................TQ.... 69
Cotesia rubecula          10  ......................................................N..... 69
Chironomus tentans        10  ......................................................T..... 69
Ceratitis capitata        10  .....................................E................T..... 69
Anopheles albimanus       8   ....................................S.................T..V.. 67
Anopheles gambiae         25  ..................D...................S...............N..... 84

Locusta migratoria        61  AKRLIGRRFDDQAVQSDMKHWPFKVINDSGKPKIQVQYKGETKTFFPEEVSSMVLTKMKE 120
Bombyx mori               70  .......K.E.AT..A.......E.VS.G.....K.A....D.................. 129
Manduca sexta             70  .......K.E.AT..A.......E.VS.G.....K.A....D.................. 129
Artemia franciscana       70  .........E.AT..........D..S.G....V..EF...K...A.......I.V.... 129
Trichoplusia ni           72  .......K.E.AT..A.......E.VS.G.....K.A....D.................. 131
Chironomus yoshimatsui    71  .......K...P...........E..SAE.......M..D.A.N.....I.......... 130
Drosophila melanogaster   70  .......K...A...........E.VSAD.....E.T..D.K.......I.......... 129
Cotesia rubecula          70  ...........PT..A.......E....A............L.............V.... 129
Chironomus tentans        70  .......K...P...........E..SNE.......M..D.A.N.....I.......... 129
Ceratitis capitata        70  .......K...AN..........E.VSAD.....S.S..D.K.......I.......... 129
Anopheles albimanus       68  .......K...PKI.A.......T.V..C.....R.EF...R...A...I.......... 127
Anopheles gambiae         85  .......K...AT..A.......D..S.G....L..E....K.S................ 144

Locusta migratoria        121 TAEAYLGKNVSNAVITVPAYFNDSQRQATKDAGAIAGLNVLRIINEPTAAAIAYGLDKKV 180
Bombyx mori               130 ........T.Q......................T.S.......................- 188
Manduca sexta             130 ........T.Q......................T.S.......................- 188
Artemia franciscana       130 .......SP..................................................T 189
Trichoplusia ni           132 ........T.Q......................T.S.......................- 190
Chironomus yoshimatsui    131 ........T.T....................S.T.S.......................A 190
Drosophila melanogaster   130 ........T.T......................T.........................A 189
Cotesia rubecula          130 .......ET.T......................I.S.M....V................T 189
Chironomus tentans        130 ........T.T....................S.T.S.......................A 189
Ceratitis capitata        128 .......QS.K.............................M..........L......NL 187
Anopheles albimanus       128 .......QS.K.............................M..........L......NL 187
Anopheles gambiae         145 ........SIA................................................- 203
```

图 3 飞蝗热休克蛋白 70 基因 cDNA 片段氨基酸序列与其他昆虫相关序列的同源性分析

Fig.3 Homologous analysis of cloned cDNA amino acid sequence of HSP70 in *Locusta migratoria*

. 代表与飞蝗热休克蛋白 70 对应位置相同的氨基酸。

. Indicates an amino acid identity compared to the sequence in *Locusta migratoria*.

11 个物种的 HSP70 在 GenBank 中的登录号（GenBank accession numbers of Hsp70 in 11 species）：*Bombyx mori*：BAB92074；*Manduca sexta*：Q9U639；*Artemia franciscana*：AAL27404；*Trichoplusia ni*：AAB06239；*Chironomus yoshimatsui*：AAN14526；*Drosophila melanogaster*：AAL89931；*Cotesia rubecula*：AAN73310；*Chironomus tentans*：AAN14525；*Ceratitis capitata*：AAC23392；*Anopheles albimanus*：P41825；*Anopheles gambiae*：XP_315042。

86.0%、84.9%和 82.5%。同源性分析结果表明，我们获得的 604 bp 的核苷酸序列编码飞蝗 HSP70 部分氨基酸序列。

2.3 种群间比较

我们用专一性引物对海南、河北、辽宁 3 个种群进行了扩增。3 条 HSP70 的 cDNA 片段长度分别为 598、604 和 599 bp；3 个片段的相似性为 98.75 %，主要的变异是河北种群cDNA片段的537

hainan	GATCTGGGAACCACGTACTCCTGTGTTGGAGTATTCCAGC	40
hebei	GATCTGGGAACCACGTACTCCTGTGTTGGAGTATTCCAGC	40
liaoning	GATCTGGGAACCACGTACTCCTGTGTTGGAGTATTCCAGC	40
hainan	ACGGGAAAGT[redacted]GAAATCATCGCCAATGATCAAGGAAATCG	80
hebei	ACGGGAAAGT[redacted]GAAATCATCGCCAATGATCAAGGAAATCG	80
liaoning	ACGGGAAAGT[redacted]GAAATCATCGCCAATGATCAAGGAAATCG	80
hainan	TAC[redacted]ACACCCAGTTATGTCGCATTTACAGATACAGAGCGA	120
hebei	TAC[redacted]ACACCCAGTTATGTCGCATTTACAGATACAGAGCGA	120
liaoning	TAC[redacted]ACACCCAGTTATGTCGCATTTACAGATACAGAGCGA	120
hainan	CTTATTGGCGATGCTGCCAAAAATCAGGTGGCCATGAACC	160
hebei	CTTATTGGCGATGCTGCCAAAAATCAGGTGGCCATGAACC	160
liaoning	CTTATTGGCGATGCTGCCAAAAATCAGGTGGCCATGAACC	160
hainan	CAAGTAACACTATTTTTGATGCAAAGCGTCTTATTGGGCG	200
hebei	CAAGTAACACTATTTTTGATGCAAAGCGTCTTATTGGGCG	200
liaoning	CAAGTAACACTATTTTTGATGCAAAGCGTCTTATTGGGCG	200
hainan	CCGTTTCGACGACCAGGCTGTACAAAGTGATATGAAGCAT	240
hebei	CCGTTTCGACGACCAGGCTGTACAAAGTGATATGAAGCAT	240
liaoning	CCGTTTCGACGACCAGGCTGTACAAAGTGATATGAAGCAT	240
hainan	TGGCCTTTCAAAGTTATAAATGATAGTGGCAA[redacted]CCAAAGA	280
hebei	TGGCCTTTCAAAGTTATAAATGATAGTGGCAA[redacted]CCAAAGA	280
liaoning	TGGCCTTTCAAAGTTATAAATGATAGTGGCAA[redacted]CCAAAGA	280
hainan	TTCAGGTTCAGTACAAAGGAGAAACAAAAACCTTCTTCCC	320
hebei	TTCAGGTTCAGTACAAAGGAGAAACAAAAACCTTCTTCCC	320
liaoning	TTCAGGTTCAGTACAAAGGAGAAACAAAAACCTTCTTCCC	320
hainan	TGAGGAGGTTAGCTCAATGGTTCTAACAAAAATGAAAGAA	360
hebei	TGAGGAGGTTAGCTCAATGGTTCTAACAAAAATGAAAGAA	360
liaoning	TGAGGAGGTTAGCTCAATGGTTCTAACAAAAATGAAAGAA	360
hainan	ACGGCAGAGGCATACCTTGGAAAGAATGTCAGTAATGCCG	400
hebei	ACGGCAGAGGCATACCTTGGAAAGAATGTCAGTAATGCCG	400
liaoning	ACGGCAGAGGCATACCTTGGAAAGAATGTCAGTAATGCCG	400
hainan	TGATCACAGTTCCTGCCTACTTCAATGATTCGCAAAGACA	440
hebei	TGATCACAGTTCCTGCCTACTTCAATGATTCGCAAAGACA	440
liaoning	TGATCACAGTTCCTGCCTACTTCAATGATTCGCAAAGACA	440
hainan	AGCCACCAAAGACGCCGGAGCCATTGCTGGTCTCAATGTG	480
hebei	AGCCACCAAAGACGCCGGAGCCATTGCTGGTCTCAATGTG	480
liaoning	AGCCACCAAAGACGCCGGAGCCATTGCTGGTCTCAATGTG	480
hainan	CTGCGTATTATTAATGAACCTACAGCAGCTGCAATTGCCT	520
hebei	CTGCGTATTATTAATGAACCTACAGCAGCTGCAATTGCCT	520
liaoning	CTGCGTATTATTAATGAACCTACAGCAGCTGCAATTGCCT	520
hainan	ATGGTCTCGATAA[redacted]AA[redacted]GGTCA[redacted]GGTGAAAGAAA	554
hebei	ATGGTCTCGATAA[redacted]AA[redacted]GGTCA[redacted]GGTGAAAGAAA	560
liaoning	ATGGTCTCGATAA[redacted]AA[redacted]GGTCA[redacted]GGTGAAAGAAA	555
hainan	TGTCCTTATTTTTGATTTGGGTGGTGGCACCTTTGACGTC	594
hebei	TGTCCTTATTTTTGATTTGGGTGGTGGCACCTTTGACGTC	600
liaoning	TGTCCTTATTTTTGATTTGGGTGGTGGCACCTTTGACGTC	595
hainan	TCC	597
hebei	TCC	603
liaoning	TCC	598

图 4　飞蝗海南、河北和辽宁 3 个种群之间热休克蛋白 70 基因 cDNA 片段核苷酸序列相似性比较

Fig.4　Nucleotide sequence comparison of HSP70 between Hainan, Hebei and Liaoning populations of *Locusta migratoria*

. 代表与飞蝗热休克蛋白 70 对应位置相同的核苷酸序列。

. Indicates an nucleotide identity compared to the sequence in *Locusta migratoria*.

—542位点处，比其他两个种群多出6个碱基（图4）。

3 讨 论

迄今已克隆到热休克蛋白基因的昆虫有20多种，但大多都是部分序列。序列分析可以看出，热休克蛋白在昆虫中是相当保守的，同源性在80.0%以上。其中，飞蝗热休克蛋白序列与鳞翅目的更相似一些，与3种蛾类的同源性都达到87.0%。

在长期的进化过程中，飞蝗种群的抗寒性已经出现了地理差异（Jing & Kang，2003）；然而从海南、河北和辽宁采集的3个种群，其HSP70 cDNA片段的相似性高达98.75%，除个别位点外，几乎没有什么变异。这表明飞蝗种群间抗寒性的差异可能并不是HSP70的序列变异引起的。果蝇的低温带种群较为耐寒，低温带种群诱导的热休克蛋白基因表达的阈温度明显低于热温带种群（Goto & Kimura，1998；Sorensen et al，2001）。而飞蝗南北种群（海南和辽宁）的抗寒性已出现差异（Jing & Kang，2003），并且其不同地理种群（和硕、哈蜜、北大港）HSP70蛋白的表达与耐寒性存在负相关关系（Li et al，2000）。由此推测，飞蝗种群间抗寒性的差异很可能与HSP70的诱导表达有关。

目前，关于热休克蛋白在自然条件下的表达情况的研究报道还很少（Nakano & Iwama，2002）。在本研究中，我们通过RT-PCR方法获得了604 bp的热休克蛋白基因cDNA片段。为进一步研究热休克蛋白在不同温度胁迫下的表达情况，及最终阐明热休克蛋白70在飞蝗抗寒性及其遗传分化中的作用提供了有力的工具。

致谢：本研究得到中国科学院遗传与发育研究所陈凡、张芳博士，中国农业大学孟祥兵博士、中国科学院华大基因研究中心刘泊湾博士的帮助，谨此致谢。

参考文献：

Brian RB, Martin EF, Sandro C. 1999. Experimental evolution of Hsp70 expression and thermotolerance in *Drosophila melanogaster* [J]. *Evolution*, **53**: 484-492.

Goto SG, Kimura MT. 1998. Heat- and cold-shock responses and temperature adaptations in subtropical and temperate species of *Drosophila* [J]. *Journal of Insect Physiology*, **44**: 1233-1239.

Jing XH, Kang L. 2003. Geographical variation in egg cold hardiness: A study on the adaptation strategies of the migratory locust *Locusta migratoria* L. [J]. *Ecological Entomology*, **28**: 151-158.

Kimura RH, Choudary PV, Schmid CW. 1999. Silk worm Bml SNIE increase following cellular insults [J]. *Nucleic. Scids. Res.*, **27**: 3380-3387.

Krebs RA, Brain RB. 1999. Evolution of thermotolerance and variation in the heat shock protein, Hsp70 [J]. *American Zoologist*, **39**: 910-925.

Lee RE Jr, Denlinger DL. 1991. Insects at Low Temperature [M]. New York: Chapman & Hall. 17-46.

Li BX, Cai HL, Chen YL. 2000. Hsp70KD related and temperature acclimated proteins synthesis in the migratory Locust, *Locusta migratoria* (L.) [A]. In: Li DM. China's Entomology Towards 21 Century [M]. Beijing: Chinese Science and Technology Press. 296-302.

Nakano K, Iwama GK. 2002. The 70-KD heat shock protein response in two intertidal sculpins, *Oligocottus maculosus* and *O. snyderi* L relationship of hsp70 and thermal tolerance [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, **133**: 79-94.

Sorensen JG, Dahlgaard J, Loeschcke V. 2001. Genetic variation in thermal tolerance among natural populations of *Drosophila huzzatii*: Down regulation of Hsp70 expression and variation in heat stress resistance traits [J]. *Functional Ecology*, **15**: 289-296.

Zhang YX, Chai TY. 1999. The Hsp70 molecular chaperone system [J]. *Prog. Biochem. Biophys.*, **26**: 554-558. [张玉秀，柴团耀. 1999. HSP70分子伴侣系统研究进展. 生物化学与生物物理进展，**26**: 554-558.]